

Oxidation of cell surface thiol groups by contact sensitizers triggers the maturation of dendritic cells

| | |
|--------|---|
| 著者 | 加賀谷 早織 |
| 学位授与機関 | Tohoku University |
| 学位授与番号 | 医博第2746号 |
| URL | http://hdl.handle.net/10097/50980 |

かがたに さおり

氏 名 加賀谷 早織

学 位 の 種 類 博士 (医 学)

学位授与年月日 平成 22 年 3 月 25 日

学位授与の条件 学位規則第 4 条第 1 項

研 究 科 専 攻 東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻

学位論文題目 Oxidation of cell surface thiol groups by contact sensitizers

triggers the maturation of dendritic cells (接触皮膚炎感作性物質
による樹状細胞活性化における細胞表面チオール基の役割)

論文審査委員 主査 教授 相場 節也

教授 八重樫 伸生 教授 加藤 正人

論 文 内 容 要 旨

Contact dermatitis is a biological response to simple chemicals in the skin. Although it is well known that allergic contact dermatitis is mediated by immune system, it still remains undetermined how sensitizers with different chemical structure can activate dendritic cells (DCs). p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) has a crucial role in the maturation of DCs by sensitizers. Recently, it has been reported that the oxidation of cell surface thiols by exogenous impermeant thiol oxidizer can phosphorylate p38 MAPK.

In this study, we examined whether sensitizers oxidize cell surface thiols of monocyte-derived DCs (MoDCs). When cell surface thiols were quantified by flow cytometry using Alexa fluor maleimide, all the sensitizers that we examined decreased cell surface thiols on MoDCs. To examine the effects of decreased cell surface thiols by sensitizers on DC maturation, we analyzed the effects of an impermeant thiol oxidizer, σ -phenanthroline copper complex (CuPhen). The treatment of MoDCs with CuPhen decreased cell surface thiols, phosphorylated p38 MAPK, and induced MoDC maturation, that is, the augmentation of CD83, CD86, HLA-DR, and IL-8 mRNA, as well as the downregulation of aquaporin-3 mRNA. The augmentation of CD86 was significantly suppressed when MoDCs were pretreated with *N*-acetyl-L-cystein or treated with SB203580. Finally, we showed that epicutaneous application of 2,4-dinitrochlorobenzene on mouse skin significantly decreased cell surface thiols of Langerhans cells *in vivo*.

These data suggest that the oxidation of cell surface thiols has some role in triggering DC maturation by sensitizers.

審査結果の要旨

博士論文題名 Oxidation of cell surface thiol groups by contact sensitizers triggers the maturation of dendritic cells (接触皮膚炎感作性物質による樹状細胞活性化における細胞表面チオール基の役割)

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・ 皮膚科学分野

氏名 加賀谷早織

接触皮膚炎感作過程における樹状細胞の活性化について、p38 mitogen activated protein kinase の活性化が重要な役割を果たすこと、さらにその上流のシグナルとして細胞内レドックスの変化が関与することが報告されている。また、細胞内レドックスの変化と細胞表面チオール基の酸化還元状態が相関することも報告されている。本研究では、ヒト末梢血単球由来樹状細胞を用いて感作性物質により細胞表面のチオール基が変化するか、その変化に伴い樹状細胞の活性化が引き起こされるか否かを検討した。

ヒト末梢血単球由来樹状細胞を様々な感作性物質および、一次刺激性物質 SDS、danger signal である ATP で刺激し、2 時間後に細胞表面チオール基結合蛍光標識である Alexa fluor 488 C5 maleimide (AFM) で染色した。また、細胞を固定化、膜透過処理を施し、anti-phospho-p38 MAPK 抗体で染色した。染色後、フローサイトメトリーにて測定した結果、すべての感作性物質により、細胞生存率 80%以上の濃度で、細胞表面チオール基は有意に減少した。一方、SLS、ATP では細胞表面チオール基の有意な減少はみられなかった。また、細胞表面チオール基の減少に伴って p38 MAPK のリン酸化が亢進した。次に、細胞表面チオール基の減少のメカニズムを解明するため、細胞膜非透過性チオール基酸化剤である o-phenanthroline copper complex (CuPhen) を用いて検討をすすめたところ、細胞表面チオール基の減少、p38 MAPK のリン酸化、共刺激分子の発現の増強、IL-8 mRNA の発現上昇、AQP3mRNA の発現低下をみとめた。また、これらの変化は N-acetyl-L-cystein (NAC) または p38 MAPK 阻害剤 SB203580 による前処理により抑制された。

最後に、マウス皮膚へ代表的な皮膚感作性物質である DNCB (dinitrochlorobenzene) を塗布し、表皮ランゲルハンス細胞の細胞表面チオール基の変化を調べたところ、有意な減少がみられた。

この結果は、細胞表面チオール基の酸化が感作性物質による樹状細胞の活性化に重要な役割をもっていることを示し、細胞表面チオール基が in vitro 感作性試験の指標になる可能性が示された。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。